

*Nabídka tématu pro doktorskou disertační práci*

Obor PGDS: **4F4 – Biofyzika, chemická a makromolekulární fyzika**

Téma česky: Dynamika a hydratace proteinů - jejich úloha v enzymatické aktivitě

Téma anglicky: : Protein dynamics and hydration – their role for the enzyme activity

Klíčová slova (nepovinné): enzym dehalogenáza, fluorescence, časově rozlišená spektroskopie, fluorescenční mikroskopie

Klíčová slova anglicky (nepovinné): enzyme dehalogenase, fluorescence, time resolved spectroscopy, fluorescence microscopy

Jazyk práce (nepovinné): anglický

Akademický rok vypsání: **2017/2018**

Typ práce: **disertační**

Ústav (školící pracoviště – katedra MFF UK nebo akreditovaný ústav AVČR):

Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v. v. i.

Školitel (jméno a příjmení s tituly, e-mail):

Mgr. Jan Sýkora, PhD., [jan.sykora@jh-inst.cas.cz](mailto:jan.sykora@jh-inst.cas.cz)

Prof. Martin Hof (konzultant), [martin.hof@jh-inst.cas.cz](mailto:martin.hof@jh-inst.cas.cz)

Zásady pro vypracování: (RDSO tuto informaci pro posouzení návrhu tématu nepotřebuje, ale je nutné do této kolonky v SIS něco napsat – možná náhrada:

[jan.sykora@jh-inst.cas.cz](mailto:jan.sykora@jh-inst.cas.cz), 26605 3142

Seznam odborné literatury (stejně jako u předchozí kolonky):

1. J. R. Lakowicz, Principles of Fluorescence Spectroscopy, 3rd edition, Springer-Verlag, 2006.
2. M. Amaro, J. Brezovsky, S. Kovacova, J. Sykora, D. Bednar, V. Nemeč, V. Liskova, N.P. Kurumbang, K. Beerens, R. Chaloupkova, K. Paruch, M. Hof, J. Damborsky, Site-Specific Analysis of Protein Hydration Based on Unnatural Amino Acid Fluorescence, J. Am. Chem. Soc., 137 (2015) 4988-4992.
3. J. Sykora, J. Brezovsky, T. Koudelakova, M. Lahoda, A. Fortova, T. Chernovets, R. Chaloupkova, V. Stepankova, Z. Prokop, I. Kuta Smatanova, M. Hof, J. Damborsky, Dynamics

and hydration explain failed functional transformation in dehalogenase design, Nat. Chem. Biol., 10 (2014) 428-430.

4. A. Jesenska, J. Sykora, A. Olzynska, J. Brezovsky, Z. Zdrahal, J. Damborsky, M. Hof, Nanosecond Time-Dependent Stokes Shift at the Tunnel Mouth of Haloalkane Dehalogenases, J. Am. Chem. Soc., 131 (2009) 494-501.

Upoutávka Úloha dynamiky a hydratace enzymů pro zajištění jejich funkce a enantioselektivity je stále nejasná. Tématem práce proto bude mapovat tyto parametry pro různé varianty enzymu dehalogenázy a získaná data vztahovat k jejich aktivitě. Pomocí tohoto přístupu nacházejí motivy, jež významně přispívají ke zvýšení aktivity a enantioselektivity. Hydratace a dynamika enzymů bude měřena pomocí tří fluorescenčních přístupů: 1. metodou relaxace rozpouštědla, jež umožňuje z analýzy časově rozlišených spekter určit mobilitu a hydrataci proteinových segmentů v přímém mikrookolí značky, 2. spektrální analýzou stacionárních spekter nepřirozené fluorescenční aminokyseliny, která vede k odhadu hydratace v jejím mikrookolí 3. fluorescenční korelační spektroskopii a fluorescenční mikroskopii, jež umožňuje sledovat dynamiku větších částí enzymů. Předpokládané znalosti uchazeče na úrovni ukončeného magisterského studia v oboru biofyzika a chemická fyzika.

Upoutávka v anglickém jazyce The role of dynamics and hydration of the enzymes in maintaining their function and enantioselectivity remains unclear. The topic of the thesis will be therefore focused on mapping these parameters in various types of dehalogenase enzymes. The gained results will be then compared to the activity data, which can identify the factors and motifs that significantly affect the enzyme ability to convert the substrate into the product. For this purpose, three fluorescence techniques will be used: 1. solvent relaxation which can determine the mobility and hydration of the hydrated protein segments in the close vicinity of the fluorescence probe, 2. the analysis of the steady state spectrum of the protein containing the coumarin like unnatural amino acid enable to estimate the hydration within its vicinity, 3. fluorescence correlation spectroscopy and fluorescence microscopy, which enables to monitor the dynamics of the larger protein segments.